

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg/Lahn
Kommissarischer Direktor: Professor Dr. med. H. Kaffarnik

**ZUR AKUTEN WIRKUNG VON ÄTHANOL UND
FRUCTOSE BEI GESUNDEN VERSUCHSPERSONEN
UNTERSUCHUNG MIT EINER NEUEN MIKROMETHODE**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

des

Fachbereiches Humanmedizin

der

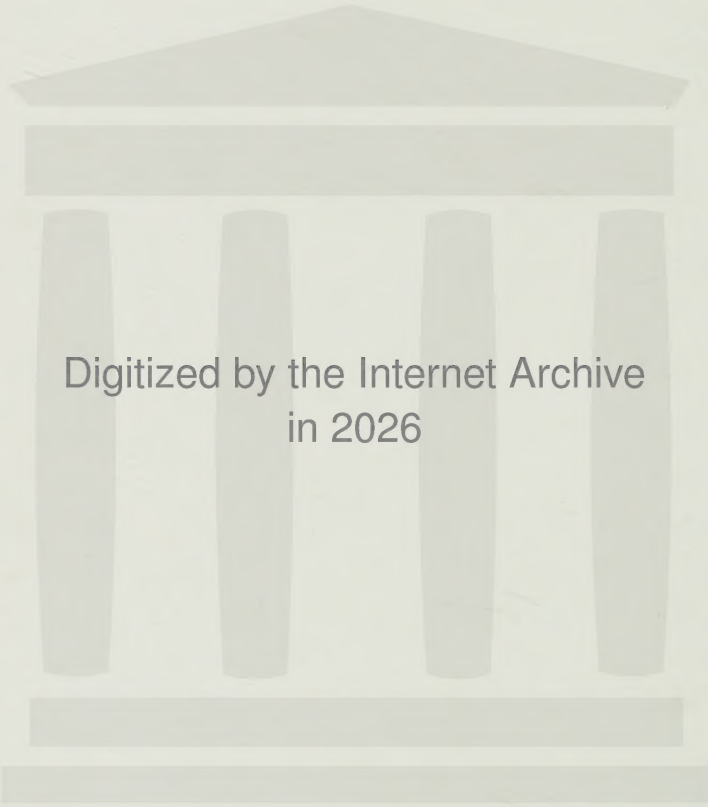
Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

FREDY BERTRAM

aus Bonn am Rhein

Marburg/Lahn 1977

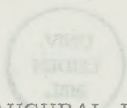


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552327_0107

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg/Lahn
Kommissarischer Direktor : Professor Dr. med. H. Kaffarnik

ZUR AKUTEN WIRKUNG VON ÄTHANOL UND
FRUCTOSE BEI GESUNDEN VERSUCHSPERSONEN.
UNTERSUCHUNG MIT EINER NEUEN MIKROMETHODE.



INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Ftedy Bertram
aus Bonn am Rhein

Marburg/Lahn 1977



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 15.04.1977

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Professor Dr. F. Neurath

Referent : Professor Dr. med. H. Kaffarnik

Correferent : Professor Dr. rer. nat. F. Zilliken

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I Einleitung	4
II Versuchsanordnung und Methodik	5
III Ergebnisse	13
IV Graphische Darstellungen und Tabellen	15
V Diskussion	26
VI Zusammenfassung	30
VII Literaturnachweis	31

I. EINLEITUNG

Seitdem bekannt geworden ist, daß ein enger Zusammenhang zwischen Fettstoffwechselstörungen und Zivilisationskrankheiten, wie Atherosklerose, Myocardinfarkt, Hypertonie etc. besteht, wird von mehreren internationalen Arbeitsgruppen der Einfluß von Ernährung und insbesondere des Äthylalkohols auf den Lipidmetabolismus untersucht. Mit dem Ansteigen des Lebensstandards der zivilisierten Weltbevölkerung nimmt das Krankheitsbild der äthanolinduzierten Hyperlipidämie eine immer wichtigere Rolle ein. Von mehreren Arbeitsgruppen konnte - meist in Tierversuchen - nachgewiesen werden (31), daß Fructose die Äthanolelimination aus der Leber nachdrücklich beschleunigt (32, 33).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Stoffwechselbeziehungen Fett - Äthanol unter der Einwirkung von oral verabreichter Fructose an jungen gesunden Versuchspersonen mit einer neuen Mikromethode quantitativ und qualitativ zu untersuchen.

Hierzu werden jeweils Äthanol- und kombinierte Äthanolfructosedosen oral verabreicht, die an der oberen Grenze pro Tag trinkbarer Menge liegen. Es werden im Plasma die Konzentrationen an Phosphatiden, freien Fettsäuren, Triglyceriden, freiem Cholesterin und Cholesterinestern gemessen. Es soll dann versucht werden, eine mit den Ergebnissen übereinstimmende Korrelation zwischen Äthanol-, Fructose- und Fettstoffwechsel zu finden.

II. VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK

Versuchspersonen

Alle Versuchspersonen wurden dazu angehalten, innerhalb der dem Versuch vorangehenden 24 Stunden kein Äthanol und am Vorabend des Experimentes eine leichte, fettarme Mahlzeit zu sich zu nehmen. Während der gesamten Versuchsdauer sollten jegliche körperliche Anstrengungen, sowie Rauchen, Kaffee- oder Teegenuß und eine Nahrungsaufnahme außer kohlen-säurehaltigen Mineralwasser unterbleiben. Eine halbe Stunde vor Entnahme der Blutproben mußten die Probanden körperliche Ruhe einhalten.

Gewinnung der Blutproben und Lagerung des Plasmas

Die Versuchspersonen waren für sämtliche Bestimmungen 20 - 35 jährige klinisch gesunde Frauen und Männer (Nichtalkoholiker). Die Blutproben wurden aus einer leicht gestauten Armvene gewonnen und in heparinisierten Röhrchen aufgefangen, anschließend sofort fünf Minuten lang bei 3 000 U/min zentrifugiert und bei $-25 - 30^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

Dosierung von Äthanol und Fructose

Die Dosierung von Äthanol und Fructose erfolgte auf folgende Arten :

Gruppe W (= Wein) erhielt eine Basisdosis von 0.5 g Äthanol/kg Körpergewicht und eine Erhaltungsdosis von 0.1 g/kg Körpergewicht in jeder der Verabreichung der Basisdosis folgenden Stunden. Die Versuchsdauer betrug insgesamt 8 Stunden.

Gruppe WF (= Wein + Fructose) erhielt eine wie in Gruppe W entsprechende Basis- und Erhaltungsdosis an Äthanol und zusätzlich reine Fructose in einer Dosierung von 0.6 g/kg Körpergewicht als Erhaltungsdosis.

Die Dauer des Versuches betrug ebenfalls 8 Stunden. Die Äthanolgabe er-

folgte in Form von fructosearmem, naturreinem Wein. Die Äthylalkoholkonzentration des Weines betrug 8.1 g/100 ml entsprechend 10.2 Vol %. Sein Kohlenhydratgehalt betrug 320 mg/L Fructose und 600 mg/L Glucose. Bei der oben angegebenen Fructosedosierung handelte es sich bei der Versuchsgruppe WF um eine etwa 10-prozentige Wein-Fructoselösung, die den Versuchspersonen verabreicht wurde.

Die Kontrollgruppe F (= Fructose) erhielt die in Gruppe WF beschriebene Fructosemenge in Verbindung mit kohlensäurehaltigem Mineralwasser zu den angegebenen Zeitpunkten.

Die Kontrollgruppe N (= Nüchtern) erhielt während der gesamten Versuchsdauer nur Mineralwasser.

Anzahl der Probanden und Zeitpunkte der Blutentnahme

In den Versuchsgruppen WF (Wein + Fructose) und N (Nüchtern) standen jeweils 5 Probanden, in der Versuchsgruppe W (Wein) 6 Versuchspersonen und in der Versuchsgruppe F (Fructose) 4 Probanden zur Verfügung. Die Zeitpunkte der Blutentnahmen waren jeweils 15 min. vor Einnahme der Basisdosis sowie 30 min., 2 und 8 Stunden nach Einnahme der Basisdosis.

Bestimmung der Plasmalipide durch Mikrolipidanalysen mit dem Eppendorfsystem 3000

Der Plasmalipidstatus wurde mit einer von uns entwickelten Methode durchgeführt, die es erlaubt, die Parameter Gesamtlipide, freies- und verestertes Cholesterin, Triglyceride, freie Fettsäuren und Phospholipide mit hoher Genauigkeit und relativ schnell in einem Arbeitsgang zu bestimmen (8). Die für eine Bestimmung benötigte Menge Plasma beträgt 50 µl.

Von jeder Probe wurden Doppelbestimmungen ausgeführt. Der Variationskoeffizient betrug = 3 %. Das Arbeiten mit dem Eppendorf-Mikrolitersystem 3000 ermöglichte das Anfertigen von jeweils sechs Doppelbestimmungen in einem Arbeitsgang. Die Bestimmung der Gesamtlipide erfolgte gravimetrisch mit einer elektrischen Cahn-Gram-Mikrowaage. Das Lipidverteilungsmuster wurde mittels Dünnschichtchromatographie auf kieselgelbeschichteten Objektträgern in drei Laufmittelsystemen fallender Polarität dargestellt. Die Wahl der Lösungsmittel ermöglichte eine optimale Trennung aller Lipidfraktionen. Diese wurden nach Veraschung densitometrisch unter standardisierten Bedingungen gemessen.

Extraktion des Gesamtlipids des Plasmas

Reagenzien und Geräte

Chloroform p. a. ; Methanol p. a. ; Eppendorf-Mikroliter-System 3000 ; 100 ml Hamilton-Spritze ; Cahn-Gram-Elektro-Mikrowaage ; Elektroheizplatte von 140°C ; Aluminiumschalen von 14 mm Durchmesser ; Abdampfapparatur.

Vorbereitung der Eppendorf-Reaktionsgefäße

Zur Entfernung von Weichmachern und niedrigen Oligomeren, die bei der quantitativen gravimetrischen Bestimmung und Densitometrie zu Fehlern führen könnten, wurden Pipettenspitzen und Reaktionsgefäße der Firma Eppendorf-Gerätebau Netheler und Hinz GmbH, Hamburg, etwa acht Stunden lang im Soxhlet-Apparat mit Chloroform : Methanol = 1 : 1 (v/v) extrahiert und anschließend für drei Stunden im Trockenschrank bei 90°C getrocknet. Pipettenspitzen und Reaktionsgefäße wurden nur einmal verwendet.

Jeweils zwei Objektträger wurden zum Beschichten "sandwich"-artig mittels Pinzette einmal in die Kieselgelsuspension eingetaucht. Die noch feuchten, beschichteten Objektträger wurden getrennt und an der Luft für etwa eine Minute getrocknet. Nach dem Trocknen wurde das Kieselgel an den Längsseiten der Objektträger zur Vermeidung von Randeffekten etwa 1 mm breit mit Daumen und Zeigefinger abgestreift. Auf die so vorbereiteten Dünnschichtplatten wurden das zu trennende Lipidgemisch mit einer Glaskapillare, 1 cm vom unteren Rand entfernt, bandenförmig aufgetragen. Dabei war darauf zu achten, daß die Kieselgelschicht nicht verletzt wurde.

Ausführung der Chromatographie und Densitometrie

Die drei Laufmittel wurden bis zu einer Höhe von jeweils drei mm in die als Chromatographiekammern dienenden Wägegläser eingefüllt. Im Gemisch Chloroform : Methanol : Wasser = 75 : 25 : 4 (v/v) ließ man jede Probe etwa einen Zentimeter über die Auftragsstelle der Lipidprobe hinaus aufsteigen. Nach Trocknen an der Luft wurde in Chloroform bis zur Mitte der Platte entwickelt. Nach Abtrocknen des Chloroforms wurde in Chloroform : n-Hexan = 1 : 3 (v/v) bis zum oberen Rand entwickelt. Man ließ wiederum trocknen und besprühte dann mit zehnprozentiger Schwefelsäure. Es war hierbei darauf zu achten, daß das Sprühgefäß einen sehr feinen Nebel absprühte, um Verletzungen der Kieselgelschicht zu vermeiden. Anschließend wurden die Platten zwei Minuten lang auf einem Heizblock bei 100°C getrocknet und danach fünf Minuten lang bei 200°C auf dem Block geschwärzt. Bei Erwärmen auf 100°C wurden Cholesterin und Cholesterinester durch die typische rotviolette Färbung erkannt (Salkowski-Reaktion). Zur weiteren Identifizierung der einzelnen, getrennten Banden wurden spezifische Sprühreagenzien oder Referenzsubstanzen verwendet (44). Das nunmehr zur Densitometrie vorbereitete

Plättchen zeigte die aufgetrennten Plasmalipide von der Auftragsstelle aus in der Reihenfolge :

Phospholipide, freie Fettsäuren, Cholesterin, Triglyceride und Cholesterin-ester.

Die quantitative Auswertung der Dünnschichtplatte erfolgte an einem Joyce-Loebl Chromoscan. Die erhaltenen Densitogramme wurden mit dem im Gerät eingebauten Integrator quantitativ ausgewertet.

Auswertung der Dünnschichtchromatogramme

Der Grad der bei der Behandlung mit Schwefelsäure aufgetretenen Schwärzung war bei gleicher Lipidmenge unter den oben angegebenen Bedingungen nur abhängig von der Struktur des jeweiligen Lipids. Lipide mit kurzkettigen oder gesättigten Fettsäuren ergaben bei gleicher Menge eine geringere Schwärzung als solche mit hoch ungesättigten Fettsäuren.

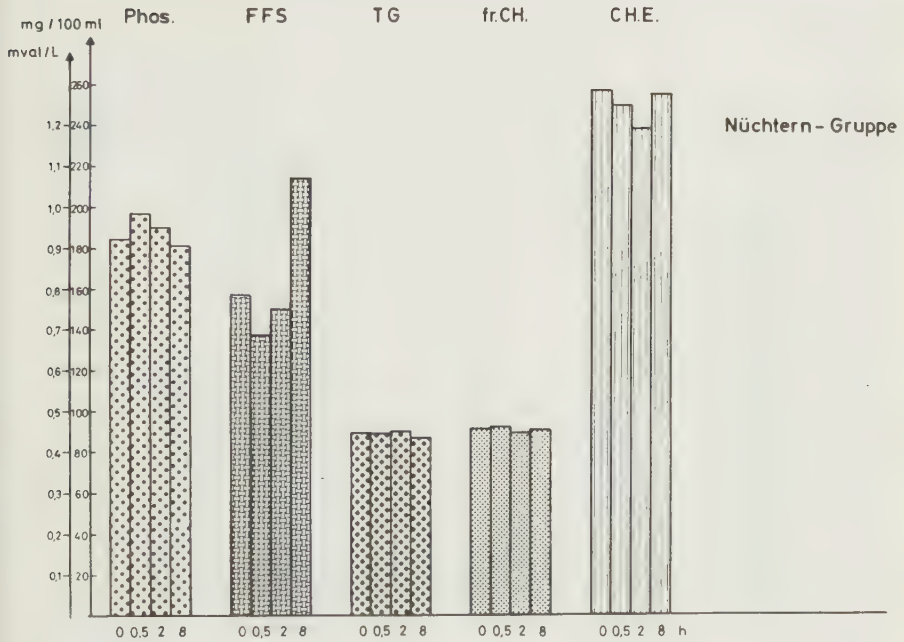
Zur Korrektur dieser Unterschiede mußten experimentell ermittelte Schwärzungsfaktoren ermittelt werden. Diese Korrekturfaktoren wurden mit den jeweiligen Flächenprozenten des Densitogramms multipliziert und ergaben dann den prozentualen Anteil dieser Lipidkomponente. Die angegebenen Korrekturfaktoren konnten für das freie und veresterte Cholesterin, Triglyceride und freie Fettsäuren mittels Bestimmungsmethoden (17) überprüft werden. Die für Plasma ermittelten Korrekturfaktoren betrugen für Cholesterin 1,00, für Cholesterinester 1,01, für Triglyceride 1,15, für freie Fettsäuren 1,10 und für Phospholipide 1,55.

Die Mittelwerte des freien Cholesterins blieben in der Nüchtern-Kontroll-Gruppe nahezu konstant, zeigten in der Wein-Gruppe eigentlich nur unbedeutenden Anstieg von 79 mg/100 ml auf 84 mg/100 ml und verhielten sich in der Fructose-Gruppe indifferent. Lediglich nach kombinierter Wein- und Fructosegabe war eine Zunahme von 59 mg/100 ml auf 83 mg/100 ml zu verzeichnen, was einem Anstieg von 42 % mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 1,84$ entspricht.

Die Cholesterinester-Werte blieben in der Nüchtern-Kontrollgruppe konstant auf einem Niveau von ca. 250 mg/100 ml, während der gesamten 8-stündigen Versuchsdauer. Auch in der Weingruppe zeigte sich nur eine geringfügige Bewegung um den Ausgangswert. Nach Fructosegabe stiegen die Werte fast konstant von 188 mg/100 ml auf 298 mg/100 ml an, was einem Anstieg von 68 % entspricht. Deutlicher zeigte sich die Zunahme der Cholesterinester nach Wein- und Fructosebelastung in einem Anstieg von 189 mg/100 ml auf 240 mg/100 ml. Das Verhalten entsprach ungefähr der Fructose-Gruppe, eine Signifikanz zeigte sich jedoch nur innerhalb der Wein- und Fructose-Gruppe mit $\alpha = 5,30$.

Die Mittelwerte der Phosphatide in der Nüchtern-Kontrollgruppe, der Weingruppe und der Fructosegruppe zeigten während der gesamten Versuchsdauer von 8 Stunden nur mäßige Schwankungen um den Ausgangswert. Lediglich in der Wein- und Fructose-Gruppe ließ sich ein kontinuierlicher Anstieg von 168 mg/100 ml auf 228 mg/100 ml zeigen. Dies bedeutete eine Erhöhung des Endwertes bezogen auf den Ausgangswert von 30 % mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,47$.

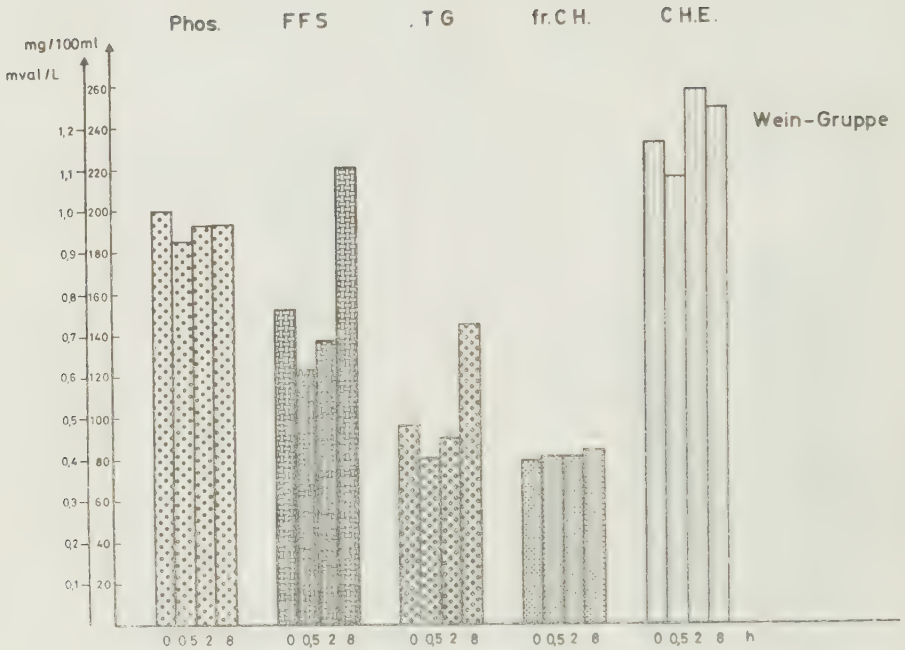
IV. GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN UND TABELLEN



Verhalten der einzelnen Lipidfraktionen bei der Nüchtern-Gruppe

Abkürzungen :

- Phos. = Phosphatide
- FFS = Freie Fettsäuren
- TG = Triglyceride
- fr.Ch. = freies Cholesterin
- CH. E. = Cholesterinester



Verhalten der einzelnen Lipidfraktionen bei der Wein-Gruppe

Abkürzungen :

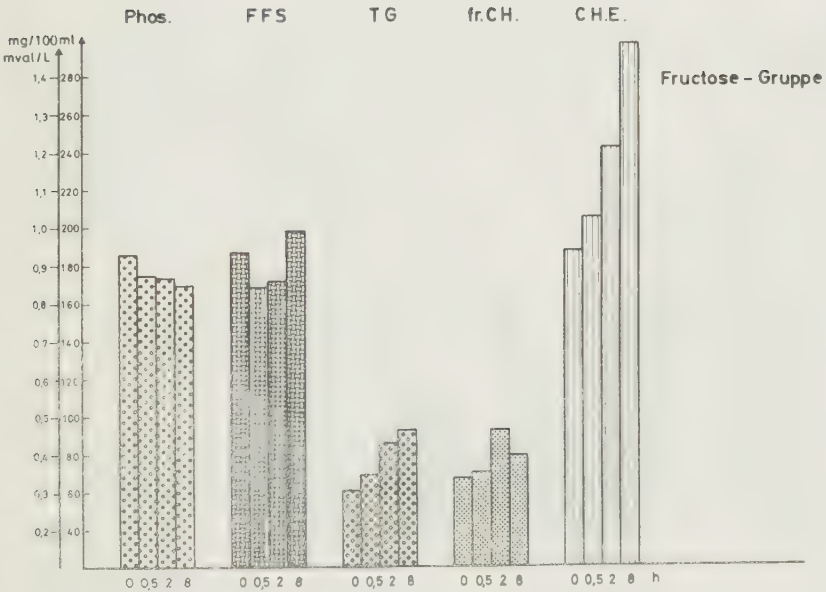
Phos. = Phosphatide

FFS = Freie Fettsäuren

TG = Triglyceride

fr.Ch. = freies Cholesterin

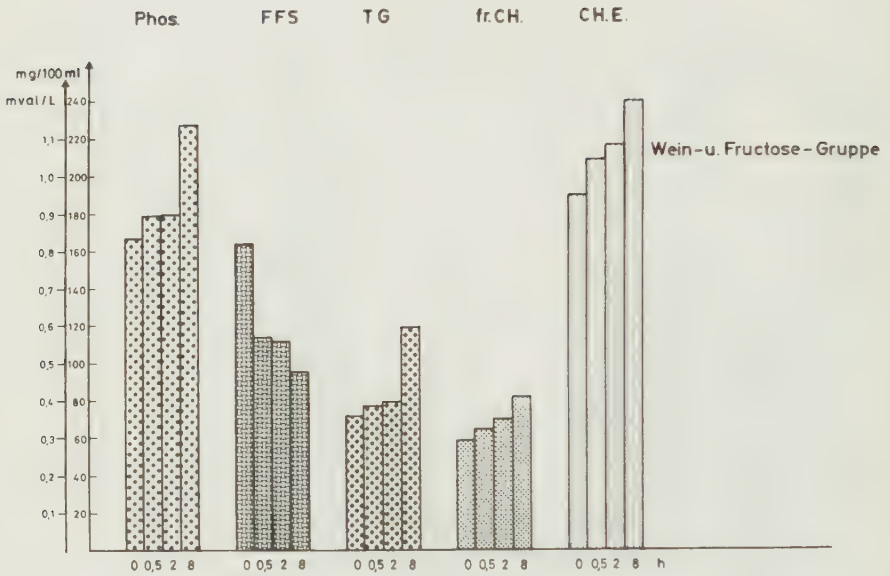
Ch.E. = Cholesterinester



Verhalten der einzelnen Lipidfraktionen bei der Fructose-Gruppe

Abkürzungen :

- Phos. = Phosphatide
- FFS = Freie Fettsäuren
- TG = Triglyceride
- fr.Ch. = freies Cholesterin
- Ch.E. = Cholesterinester



Verhalten der einzelnen Lipidfraktionen bei der Wein- und Fructose-Gruppe

Abkürzungen :

- Phos. = Phosphatide
- FFS = Freie Fettsäuren
- TG = Triglyceride
- fr.Ch. = freies Cholesterin
- CH.E. = Cholesterinester

Signifikanzniveau der Phosphatide der einzelnen Gruppen gegen den Ausgangswert

Vergl. Z.P. :	1 mit 2	1 mit 3	1 mit 4
<u>Nüchtern</u>	62.03	82.77	90.94
<u>Wein</u>	61.09	84.23	83.48
<u>Fructose</u>	76.92	71.83	57.42
<u>W. u. F.</u>	53.43	55.54	0.47

Signifikanzniveau der freien Fettsäuren der einzelnen Gruppen gegen den Ausgangswert

Vergl. Z.P. :	1 mit 2	1 mit 3	1 mit 4
<u>Nüchtern</u>	55.50	84.90	17.43
<u>Wein</u>	27.83	60.38	8.75
<u>Fructose</u>	70.69	56.98	68.61
<u>W. u. F.</u>	18.73	10.62	4.62

Signifikanzniveau des freien Cholesterins der einzelnen Gruppen gegen den Ausgangswert

Vergl. Z.P. :	1 mit 2	1 mit 3	1 mit 4
<u>Nüchtern</u>	92.44	86.43	94.93
<u>Wein</u>	89.76	87.78	69.01
<u>Fructose</u>	84.28	44.15	48.13
<u>W. u. F.</u>	48.77	27.89	1.84

Signifikanzniveau der Triglyceride der einzelnen Gruppen gegen den Ausgangswert

Vergl. Z.P. :	1 mit 2	1 mit 3	1 mit 4
<u>Nüchtern</u>	98.45	97.52	91.55
<u>Wein</u>	61.45	83.25	22.27
<u>Fructose</u>	62.82	51.05	17.96
<u>W. u. F.</u>	73.92	60.57	2.21

Signifikanzniveau der Cholesterinester der einzelnen Gruppen gegen den Ausgangswert

Vergl. Z.P. :	1 mit 2	1 mit 3	1 mit 4
<u>Nüchtern</u>	85.80	66.03	95.04
<u>Wein</u>	72.97	59.68	72.52
<u>Fructose</u>	50.82	30.92	6.61
<u>W. u. F.</u>	42.77	31.03	5.30

Vergl. Z.P. = verglichene Zeitpunkte

Verhalten der Phosphatide in den einzelnen Gruppen

Zeitpunkt	0'	30'	2 h	8 h
<u>Nüchtern</u> (n = 5)				
XQ	184,2	196,6	189,6	180,8
SE	35,05	40,83	40,70	54,47
SM	15,67	18,26	18,20	24,36
proz. Abw.		7,3	4,2	-2,2
<u>Wein</u> (n = 6)				
XQ	199,7	184,8	193,2	193,3
SE	64,38	25,34	44,02	33,30
SM	26,28	10,35	17,97	13,60
proz. Abw.		0,1	2,6	5,0
<u>Fructose</u> (n = 4)				
XQ	185,8	175,0	173,7	169,7
SE	42,54	49,43	39,72	18,90
SM	21,27	28,54	22,93	10,91
proz. Abw.		-6,1	5,9	3,0
<u>Wein u. Fructose</u> (n = 5)				
XQ	167,8	179,0	179,4	227,5
SE	28,73	34,01	45,25	35,95
SM	10,16	15,21	17,10	14,68
proz. Abw.		5,4	1,8	30,1

XQ = Mittelwert

SE = Streuung der Einzelwerte

SM = Streuung der Mittelwerte

proz. Abw. = prozentuale Abweichung der Mittelwerte

Verhalten der freien Fettsäuren in den einzelnen Gruppen

Zeitpunkt :	0'	30'	2 h	8 h
<u>Nüchtern</u> (n = 5)				
XQ	0.783	0.683	0.749	1.072
SE	0.35	0.09	0.16	0.25
SM	0.16	0.04	0.07	0.11
proz. Abw.		1.7	10.9	63.2
<u>Wein</u> (n = 6)				
XQ	0.762	0.616	0.684	1.100
SE	0.23	0.21	0.27	0.37
SM	0.09	0.09	0.11	0.15
proz. Abw.		-11.5	3.9	61.5
<u>Fructose</u> (n = 4)				
XQ	0.937	0.846	0.859	0.989
SE	0.16	0.43	0.18	0.16
SM	0.08	0.25	0.10	0.09
proz. Abw.		- 2.1	- 8.6	4.4
<u>Wein u. Fructose</u> (n = 5)				
XQ	0.838	0.570	0.564	0.476
SE	0.39	0.20	0.15	0.11
SM	0.14	0.09	0.06	0.04
proz. Abw.		- 29.1	- 23.7	- 37.9

XQ = Mittelwert

SE = Streuung der Einzelwerte

SM = Streuung der Mittelwerte

proz. Abw. = prozentuale Abweichung der Mittelwerte

Verhalten des freien Cholesterins in den einzelnen Gruppen

Zeitpunkt :	0'	30'	2 h	8 h
<u>Nüchtern</u> (n = 5)				
XQ	90,8	91,8	89,4	91,4
SE	11,56	19,68	13,45	16,86
SM	5,17	8,80	6,01	7,54
proz. Abw.		0,8	- 1,7	0,2
<u>Wein</u> (n = 6)				
XQ	78,8	80,7	80,8	84,0
SE	22,56	25,45	21,34	21,01
SM	9,21	10,39	8,71	8,58
proz. Abw.		4,4	5,9	10,5
<u>Fructose</u> (n = 4)				
XQ	67,5	70,3	93,0	79,3
SE	18,50	16,56	58,97	22,90
SM	9,25	9,56	34,04	13,22
proz. Abw.		10,2	56,1	36,7
<u>Wein u. Fructose</u> (n = 5)				
XQ	59,1	64,8	70,4	82,5
SE	16,26	8,11	22,38	15,33
SM	5,75	3,62	8,46	6,26
proz. Abw.		4,8	14,6	41,8

XQ = Mittelwert

SE = Streuung der Einzelwerte

SM = Streuung der Mittelwerte

proz. Abw. = prozentuale Abweichung der Mittelwerte

Verhalten der Triglyceride in den einzelnen Gruppen

Zeitpunkt :	0'	30'	2 h	8 h
<u>Nüchtern (n = 5)</u>				
XQ	89.4	89.0	90.0	87.4
SE	30.68	32.46	28.39	26.98
SM	13.72	14.52	12.70	12.06
proz. Abw.		-0.1	2.0	-0.9
<u>Wein (n = 6)</u>				
XQ	96.2	80.5	89.5	144.5
SE	64.34	36.22	39.00	64.45
SM	26.27	14.79	15.92	26.31
proz. Abw.		-7.6	3.2	68.4
<u>Fructose (n = 4)</u>				
XQ	60.8	69.0	86.3	93.0
SE	14.45	28.00	72.67	38.97
SM	7.23	16.17	41.95	22.50
proz. Abw.		6.9	44.1	63.5
<u>Wein u. Fructose (n = 5)</u>				
XQ	71.9	77.4	79.6	119.2
SE	28.11	28.86	28.12	39.50
SM	9.94	12.91	10.63	16.13
proz. Abw.		5.8	4.5	67.4

XQ = Mittelwert

SE = Streuung der Einzelwerte

SM = Streuung der Mittelwerte

proz. Abw. = prozentuale Abweichung der Mittelwerte

Verhalten der Cholesterinester in den einzelnen Gruppen

Zeitpunkt :	0'	30'	2 h	8 h
<u>Nüchtern (n = 5)</u>				
XQ	258.0	249.6	238.8	255.2
SE	71.82	71.92	60.78	66.0
SM	32.12	32.16	27.18	29.52
proz. Abw.		-2.7	-4.5	0.7
<u>Wein (n = 6)</u>				
XQ	231.2	214.3	256.2	247.5
SE	98.13	61.88	54.19	51.15
SM	40.06	25.26	22.12	20.88
proz. Abw.		9.8	43.5	36.5
<u>Fructose (n = 4)</u>				
XQ	188.0	206.3	243.3	298.3
SE	33.33	34.27	92.64	88.49
SM	16.66	19.79	53.49	51.09
proz. Abw.		18.0	35.7	68.4
<u>Wein u. Fructose (n = 5)</u>				
XQ	189.6	208.0	216.0	239.7
SE	46.53	20.58	50.21	37.99
SM	16.45	9.20	18.98	15.51
proz. Abw.		8.7	12.5	26.5

XQ = Mittelwert

SE = Streuung der Einzelwerte

SM = Streuung der Mittelwerte

proz. Abw. = prozentuale Abweichung der Mittelwerte

V. DISKUSSION

Die meisten bisher publizierten Arbeiten über den Einfluß des Äthylalkohols auf den Fettstoffwechsel befaßten sich mit chronischen Alkoholikern, d.h. es wurden die Veränderungen im Lipidmetabolismus unter langfristiger Äthanoleinwirkung untersucht (11, 51, 2). Erst in neuester Zeit wurde die akute Wirkung des Äthylalkohols auf den Fettstoffwechsel klinisch gesunder, fastender Versuchspersonen untersucht (20, 29).

Die vorliegende Arbeit ist unter der Aufgabenstellung entstanden, die mit herkömmlichen Methoden gefundenen Ergebnisse unter Zuhilfenahme einer neuen Mikromethode zur Bestimmung eines gesamten Lipidstatus in einem Arbeitsgang zu überprüfen bzw. zu vergleichen. Wie aus den Ausführungen im zweiten Kapitel ersichtlich, hat diese Methode den großen Vorteil, aus nur 50 μ l Serum einen umfassenden Lipidstatus mit den Fraktionen Phosphatiden, freie Fettsäuren, freies Cholesterin, Triglyceride, Cholesterinester und Gesamt-Lipide in einem Arbeitsgang zu liefern. Jedoch erfordert die hier benutzte Methode eine sehr genaue Arbeitsweise, da kleine Fehler oder Unsauberkeiten die Ergebnisse stark verfälschen können. So können beispielsweise Verunreinigungen im Kieselgel der Dünnschichtchromatographie oder in der 10-prozentigen Schwefelsäure schon zu falschen Resultaten bei der Veraschung der Lipide führen.

Bevor die Ergebnisse erläutert werden, soll zu deren besserem Verständnis kurz auf den Äthanol-Stoffwechsel eingegangen werden. Die Metabolisierung des Äthylalkohols findet zu 90 % in der Leber statt. Im ersten Reaktionsschritt wird Äthanol zu Acetaldehyd oxydiert. Dies geschieht mit Hilfe des im Cytoplasma der Leberzelle befindlichen Enzyms Alkoholdehydrogenase (ADH). Hierbei wird NAD^+ als Coenzym der ADH zu $\text{NADH} + \text{H}^+$ reduziert. Im weiteren Verlauf wird das Acetaldehyd durch

die Acetaldehyddehydrogenase zu Acetat oxydiert. Coenzym ist wieder NAD. Es entsteht also auch bei der zweiten Oxydation wieder $\text{NADH} + \text{H}^+$ (25, 42). Es resultiert ein Anstieg des Quotienten $\frac{\text{NADH} + \text{H}^+}{\text{NAD}}$ in der

Leber, welcher von verschiedenen Autoren beschrieben wurde (14, 30, 43) und von Lieber als eine alkoholspezifische Wirkung bezeichnet wird.

Das entstandene Acetat wird größtenteils mit dem Blut abtransportiert, dient zum Anderen als Hauptlieferant von Acetyl-CoA für andere Syntheseleistungen (15, 22, 50). Die Aktivität der für die Äthanoloxydation benötigten ADH ist weitaus geringer als diejenige der Acetaldehyddehydrogenase in der Leber. Somit wird die Rate der Alkoholverbrennung durch die Konzentration der ADH eingeschränkt (7). Außerdem wird als einschränkender Faktor des Reaktionsablaufes das wasserstoffübertragende Coenzym NAD angenommen, bzw. seine Möglichkeit, durch verschiedene Stoffwechselreaktionen vom reduzierten in den oxydierten Zustand überführt zu werden (5, 16, 23, 43). Der oben beschriebene Anstieg des Quotienten $\frac{\text{NADH} + \text{H}^+}{\text{NAD}}$ bewirkt eine Verschiebung in verschiedenen

Redoxsystemen in der Leberzelle, beispielsweise im Lactat-Pyruvat-System. Von mehreren Autoren wird ein Anstieg von Lactat nach Äthylalkoholgaben beschrieben (40, 28, 24). Eine weitere Verschiebung findet in den Redoxsystemen Dihydroxyacetonphosphat-L- α -Glycerophosphat statt (9, 30). Diese Substanz, Hauptakzeptor für die freien Fettsäuren (41, 45, 48), ist ebenfalls nach Äthanolaufnahme in der Leber erhöht (30). Das L- α -Glycerophosphat induziert unter verstärkter Triglyceridsynthese (10, 11, 18, 23, 41, 51) eine initiale Senkung der freien Fettsäuren im Serum (20). An dieser Stelle muß auf die Wirkung des Äthylalkohols auf das sympathicoadrenale System eingegangen werden. Es ist schon hinreichend bekannt, daß Adrenalin zur Mobilisation von freien Fettsäuren führt. So ist auch bei hungernden Versuchspersonen ein Anstieg der freien Fettsäuren im Serum (siehe Nüchtern - Kontrollgruppe) durch adrenalininduzierte periphere Lipolyse zu erklären. Von mehreren Autoren wird auch eine erhöhte Ausscheidung von Adrenalin und Noradrenalin

nach Äthanolgabe beschrieben (1, 21, 34). Um diese These zu belegen, hat man bei Versuchstieren Hypophysektomie und Adrenalektomie durchgeführt und fand, daß die Entstehung der Alkoholfettleber dadurch verhindert werden konnte (4). Die Untersuchungen von Schapiro und Scheig (37, 38), Wakabayashi (49), sowie Scheig und Isselbacher (39) zeigten einen vermehrten Fettsäureeinbau in die Leber unter Äthanolgaben. Die lipolyse-fördernde Wirkung des Adrenalins und seine vermehrte Ausschüttung nach Äthanolgabe zeigt sich in der von verschiedenen Autoren beschriebenen Erhöhung der freien Fettsäuren im Plasma (3, 6, 12, 26, 27) als alkoholspezifische Wirkung.

Der initiale Abfall der freien Fettsäuren mit konsekutiver Erhöhung bei kontinuierlicher Triglyceriderhöhung im Serum in der Weingruppe ist auch von Kaffarnik und Schneider beschrieben worden (19, 20). Es liegt die Vermutung nahe, daß es sich um die Resultante von zwei verschiedenen Einzelbewegungen handelt, die sich durch Ausmaß und oder zeitlichen Ablauf unterscheiden: 1. eine initiale Senkung der freien Fettsäuren und 2. ein sekundärer Anstieg derselben. Möglicherweise handelt es sich auch um zwei gleichzeitig einsetzende Reaktionen mit entgegengesetztem Effekt von denen der die freien Fettsäuren mobilisierende Mechanismus langsamer in Gang kommt. Zur weiteren Erläuterung sei auf die oben beschriebenen Verschiebungen in den Redoxsystemen der Leber nach Äthanolaufnahme verwiesen.

Fructose bewirkt offensichtlich eine Hemmung der peripheren Lipolyse, welches sich in dem fehlenden sekundären Anstieg der freien Fettsäuren nach Fructosebelastung zeigt. Ebenso als ein fructosespezifischer Effekt läßt sich die beschleunigte Äthanol elimination aus der Leber bezeichnen. Dies läßt sich an dem gegenüber der Weingruppe geringeren Anstieg der Triglyceride in der Wein-Fructose-Gruppe ablesen, zumal die freien Fettsäuren einen kontinuierlichen Abfall erkennen lassen. Die Nüchtern-Kontrollgruppe ließ im Gegensatz zu der Wein-Fructose- und der Weingruppe keine Veränderungen der Triglyceride (Hungerlipolyse) und einen kontinuierlichen Anstieg der freien Fettsäuren erkennen.

Der Triglyceridanstieg nach Fructose allein war nicht signifikant. Die freien Fettsäuren zeigten in der Wein-Fructose-Gruppe einen kontinuierlichen Abfall, wohingegen in allen anderen Gruppen sich ein Anstieg zeigte.

Die beschleunigte Äthanolelimination aus der Leber durch Einfluß von Fructose wurde bereits mehrfach belegt (36, 46, 47).

Eine hier gefundene Zunahme des Cholesterins nach Fructoseaufnahme ist bisher noch nicht veröffentlicht worden. Es muß Ziel weiterführender Arbeiten sein, diese Wirkung zu belegen und zu deuten.

Die gefundene Zunahme der Phosphatide nach kombinierter Wein-Fructose-Gabe ist zwar signifikant, jedoch für die klinische Praxis nicht allzu bedeutungsvoll.

Bezugnehmend auf die einleitend dargestellten Zusammenhänge zwischen Äthanolkonsum, Hyperlipidämie und Atherosklerose sowie ihrer Folgeerkrankungen kann festgestellt werden, daß in den vorliegenden Untersuchungen diese Thesen weiter untermauert werden konnten.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

An gesunden fastenden Versuchspersonen mit einem Durchschnittsalter von 27 Jahren wurden nach initialer und weiterhin stündlicher Gabe von Wein bzw. Äthanol und Fructose Plasmalipidbestimmungen mit einer neuartigen und bisher nicht weit verbreiteten Mikromethode vorgenommen. Es wurden im einzelnen die Konzentrationen an Phosphatiden, freien Fettsäuren, Triglyceriden, Cholesterin und Cholesterinestern im Plasma bestimmt. Die oben genannten Parameter wurden ebenfalls in einer Nüchtern-Kontrollgruppe und in einer nur mit Fructose belasteten Gruppe gemessen.

Die gefundenen Ergebnisse stehen im Einklang mit in der Literatur beschriebenen Resultaten vergleichbarer Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen. Lediglich der Anstieg des veresterten Cholesterins nach Fructosebelastung wurde bisher nicht beschrieben und bedarf einer Abklärung in weiterführenden Arbeiten. Es wird versucht, die gefundenen Resultate im Rahmen der vorliegenden Literatur zu diskutieren und die betreffenden Stoffwechselwege darzulegen.

Abschließend kann gefolgert werden, daß chronischer Alkoholgenuß bei gesunden Personen als mögliche Ursache der Atherosklerose angesehen werden muß.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abelin, J., : Über die erregende Wirkung des Alkohols auf
Herren, C., : den Adrenalin- und Noradrenalinhaushalt des
Berli, W. : menschlichen Organismus.
Helv. med. Acta 25, 591 (1958).

2. Albrink, M.J., : Lactescence of Serum following Episodes of
Klatskin, G. : acute Alcoholism and its probable Relationship
to acute Pancreatitis.

3. Ammon, H.P.T.,: Zeitlicher Zusammenhang zwischen Blutalkohol-
Estler, C.J., : spiegel und Änderung des Lipidgehaltes im Blut
Zeller, W., : und Leber.
Pfeiffer, R. : Medizina pharmacol. Exp. 14, 585 (1966).

4. Bloch, J.L. : Role of hypophysis and adrenals in fatty infil-
tration of liver resulting from acute ethanol
intoxication.
Amer. J. Physiol. 184, 29 (1956).

5. Bonnicksen, R. : 4. Colloquium der Gesellschaft für Physiologische
Chemie, Berlin, Springer Verlag, S. 151 (1953).

6. Brodie, B.B., : Alcohol Induced Triglyceride Deposition in Liver
Butler, W.M.jr., : through Derangement of Fat Transport.
Horning, M.C., : Amer. J. Clin. Nutr. 9, 432 (1961).
Maickel, R.P., :
Maling, H.M.

7. Büttner, H. : Aldehyd- und Alkoholdehydrogenase-Aktivität in
Leber und Niere der Ratte.
Biochem. Zeitschr. 341, 300 (1965).

8. Egge, H. : Mikrolipidanalysen aus Serum mit dem Eppen-
Murawski, U., : dorfsystem 3000.
Müller, J., : Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, 488 (1970).
Zilliken, F.

9. Estler, C.J. : The Influence of pyrazole and Kö 592 of ethanol
induced changes in carbohydrate metabolism of
the liver.
Internationales Symposion 2. - 4. Okt. 1970,
Freiburg i. Br., S. 55.

10. Estler, C.J. : Experimental studies on the effect of alcohol
on carbohydrate and fat metabolism in the liver.
Arzneimittelforschung 19, 796 (1969).

11. Feigl, J. : Neue Untersuchungen zur Chemie des Blutes bei akuter Alkoholintoxikation und bei chronischem Alkoholismus mit besonderer Berücksichtigung der Fette und Lipide. Chemische Untersuchungen zur Kenntnis der Entwicklung und des Aufbaus von Lipämien V. Biochem. Zeitschr. 92, 282 (1918).
12. Feigelson, E.B., : The Role of Plasma FFA in Development of Fatty
Pfaff, W.W., Liver.
Karmen, A., J. Clin. Invest. 40, 2171 (1961).
Steinberg, D.
13. Folch, J., : A simple method for the isolation and purification
Lees, M., of total lipids from animal tissues.
Sloane-Stanley, D.H. J. Biol. Chem. 226, 497 (1957).
14. Forsander, O., : Alkoholoxidation und Bildung von Acetoacetat in
Räikä, N., normaler glycogenarmer intakter Rattenleber.
Suomalainen, H. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 226, 497 (1957).
15. Forsander, O.A. : Oxidation des Äthylalkohols in isolierter und iso-
Räikä, N., liertem Hinterkörper der Ratte.
Suomalainen, H. Zeitschr. Physiol. Chem. 318, 1 (1960).
16. Forsander, O.A. : Ethanol Metabolism, in : Alcohol and the liver,
Internationales Symposion 2.-4. Okt. 1970,
Freiburg i.Br., S. 41.
17. van Gent, G.M. : z. analyt. Chem. 236, 344 (1968).
18. Jones, D.P., : Effects of ethanol on plasma lipids in man.
Losowsky, M.S., J. Lab. Clin. Med. 62, 675 (1963).
Davidson, C.S.
19. Kaffarnik, H., : Die äthanolinduzierte Hyperlipoproteinämie des
Schneider, J. stoffwechselgesunden Menschen.
Klin. Wschr. 54 (1976) 747-754.
20. Kaffarnik, H., : Zur kurzfristigen Wirkung des Äthylalkohols auf
Schneider, J. die Serumlipide gesunder fastender Versuchspersonen.
Z. ges. exp. Med. 152, 187 (1970).
21. Klingman, G.J., : Urinary Epinephrine and Levarterenol excretion
Godall, Mc.C. during acute sublethal alcohol intoxication in dogs.
J. Pharmacol. (Exp. Ther.) 121, 313 (1957).

22. Landquist, F., : Ethanol metabolism and production of free
Tygstrup, N., acetate in the human liver.
Winkler, K., J. Clin. Invest. 41, 955 (1962).
Mellemgard, K.,
Munk-Peterson, S.
23. Lieber, C.S. : Metabolic effects produced by alcohol in the
liver and other tissues.
Advances Intern. Med. 14, 151 (1968).
24. Lieber, C.S., : Effect of Ethanol on Plasma Free Fatty Acids
Leevy, C.M., in Man.
Stein, S. J. Lab. Clin. Med. 59, 826 (1962).
25. Lieber, C.S., : Effect of Ethanol on Fatty Acid Metabolism
De Carli, L.M., in Liver Slices.
Schmid, R. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1, 302 (1959).
26. Maickel, R.P., : Role of Pituitary-Adrenal System in Derangement
Paoletti, R. of Fat Mobilisation Produced by Ethanol.
Fed. Proc. 20, 276 (1961).
27. Mallov, S. : Effect of Ethanol Intoxication on Plasma Free
Fatty Acids in the Rat.
Quart. J. Stud. Alcohol 22, 250 (1961).
28. Mendeloff, A.I. : Effects of Intravenous Infusions of Ethanol
Upon Estimated Hepatic Blood Flow in Man.
J. Clin. Invest. 33, 1298 (1954).
29. Mühlfellner, G., : Die Wirkung des Äthylalkohols auf die Plasma-
Mühlfellner, O., lipide isocalorisch ernährter Versuchspersonen.
Kaffarnik, H. Z. ges. exp. Med. 154, 22 (1971).
30. Nikkilä, E.A., : Role of Hepatic L- α -Glycerophosphate and
Ojala, K. Triglyceride Synthesis in Production of Fatty
Liver by Ethanol.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113, 814 (1963).
31. Nohl, H., : Stimulation des Alkoholabbaus durch Fructose.
Zöllner, N. Untersuchungen zum Mechanismus des sogenannten
Fructose-Effektes an der perfundierten Ratten-
leber. Vorgetragen auf der Koordinierungsbe-
sprechung der Arbeitsgruppe "Alkohol" am
16.11.73 in München.

32. Pawan, G.L.S. : Alcohol Metabolism in Man : Acute effects of Physical Exercise, Caffeine, Fructose, and Glucose on the Rate of Ethanol Metabolism.
Biochem. J. 106, 19 (1968).
33. Pawan, G.L.S. : The Effect of Vitamin Supplements and Various Sugars on the Rate of Metabolism of Ethanol in Man.
Biochem. J. 107, 25 (1968).
34. Perman, E.S. : The Effect of Ethyl Alcohol on the Secretion from the Adrenal Medulla of the Cat.
Acta Physiol. Scand. 48, 323 (1960).
35. Pfeifer, J.J. : Microchim. Acta 529 (1962).
36. Pletscher, V.A.,
Bernstein, A.,
Staub, H. : Zur Beeinflussung der Umsatzgeschwindigkeit des Alkohols : I. Die Beeinflussung des oxydativen Alkoholabbaus durch Fructose.
Helvet. physiol. et physik. Acta 10, 74 (1952).
37. Schapiro, R.H.,
Drummey, G.D.,
Shimizu, Y.,
Isselbacher, K.J. : Studies on the Pathogenesis of the Ethanol Induced Fatty Liver. II. Effect of Ethanol on Palmitate I - ¹⁴C Metabolism by the Isolated Perfused Rat Liver.
J. Clin. Invest. 43, 1338 (1963).
38. Scheig, R.L.,
Drummey, G.D.,
Mendelson, J.H.,
Isselbacher, K.J. : Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and metabolism of lipids in man.
New Engl. J. Med. 272, 610 (1965).
39. Scheig, R.L.,
Isselbacher, K.J. : Effect of Ethanol on the Liver : Evidents for Preferential Synthesis of Triglycerids.
J. Clin. Invest. 42, 975 (1963).
40. Seligson, D.,
Waldstein, S.S.,
Mekonvey, W.H.,
Sborov, V.M. : Some Metabolic Effects of Ethanol in Humans.
Clinic. Resp. 1, 86 (1953).
41. Shapiro, B.,
Statter, M.,
Rose, G. : Pathways of Triglyceride Formation in Adipose Tissue.
Biochem. Biophys. Acta 44, 373 (1960).

42. Smith, N.E., : Ethanol I-¹⁴C and Acetate I-¹⁴C Incorporation
Newman, H.W. : into Lipid Fractions in the Mouse.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 282 (1960).
43. Smith, N.E., : Rate of Ethanol Metabolism in Fed and Fasting
Newman, H.W. : Animals.
J. Biol. Chem. 234, 1544 (1959).
44. Stahl, E. : Dünnschichtchromatography, 2. Aufl. Springer
Verlag, Berlin (1967).
45. Stein, Y., : Glyceride Synthesis by Microsome Fractions
Shapiro, B., : of Rat Liver.
Biochim. Biophys. Acta 30, 271 (1958).
46. Stuhlfauth, K., : Untersuchungen über den enzymatischen
Engelhardt-Goelkel, A., : Alkoholabbau beim Menschen unter besonderer
Schaffry, J. : Berücksichtigung des Intermediärstoffwechsels.
Klin. Wschr. 48, 1147 (1966).
47. Tygstrup, N., : The Mechanism of the fructose effect on the
Winkler, K., : ethanol metabolism of the human liver.
Lundquist, F. : J. Clin. Invest. 44, 817 (1965).
48. Tzur, N., : L- α -glycerophosphate as regulatory factor in
Tal, E., : fatty acid esterification.
Shapiro, B. : Biochim. Biophys. Acta 84, 18 (1964).
49. Wakabayashi, M., : Fed. Proc. 20, 276 (1961).
Horning, M.G.,
Maling, H.M.,
Brodie, D.B.
50. Williamson, J.R., : Metabolic Effects of Ethanol in Perfused Rat
Scholz, R., : Liver.
Browning, E.T., : J. Biol. Chem. 244, 5044 (1969).
Thrumann, R.G.,
Fukani, M.H.
51. Zieve, L. : Hyperlipemia and Hemolytic Anemia : Heretofore-
recognized syndrome associated with alcoholic
fatty liver and cirrhosis.
Ann. Intern. Med. 48, 471 (1958).
52. Zöllner, N., : Untersuchung und Bestimmung der Lipide im
Eberhagen, D. : Blut.
Springer-Verlag, Berlin (1965).

LEBENS LAUF

Am 16. August 1947 wurde ich als zweites Kind des Arztes Dr. med. Fritz Bertram und seiner Ehefrau Brunhilde Bertram geb. Graf, in Bonn am Rhein geboren.

Nach Schulbesuch in Bad Godesberg-Mehlem und Bonn-Bad Godesberg legte ich im Juli 1967 am staatlichen Nicolaus Cusanus-Gymnasium in Bonn-Bad Godesberg die Reifeprüfung ab. Das Studium der Medizin nahm ich im Wintersemester 1967/1968 in Strasbourg (Frankreich) auf, wechselte im April 1968 zur Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn, wo ich im Juli 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im März 1971 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Im Juli 1974 bestand ich ebendort das medizinische Staatsexamen und leistete vom 1. September 1974 bis zum 31. August 1975 meine Zeit als Medizinalassistent im Krankenhaus der Franziskanerinnen in Linz am Rhein ab. Dort arbeitete ich dann noch bis zum 31. Dezember 1975 als Assistent auf der chirurgischen Abteilung. Seit Januar 1976 leiste ich meinen Wehrdienst im Bundeswehrkrankenhaus in Gießen in der Abteilung für Dermatologie und Venerologie als Stabsarzt ab. Die Approbation als Arzt habe ich seit September 1975.

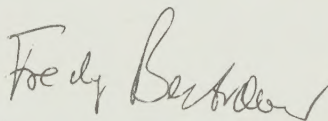
Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren
Professoren und Dozenten :

Baurmann	Leinbrock
Becker	Lellbach
Bock	Meyer
Brandis	Mörsdorf
Breuer	Mosebach
Cremer	Passoth
Dardenne	Pichotka
Dengler	Plotz
Domenjoz	Rhodermund
Egge	Rössler
Fleischhauer	Schaede
Frohberg	Schlöndorff
Goslar	Schneider
Gütgemann	Schwarzacher
Hagen	Thofern
Hungerland	Thurn
Käufer	Totovicz
Kessler	Tschesche
Korte	Weitbrecht
Kühl	Zilliken

Herrn Professor Dr. Kaffarnik danke ich für die Überlassung des
Themas, ihm und Herrn Professor Zilliken für die Bereitstellung des Arbeits-
platzes, Herrn Professor Egge sowie den Herren Dr. Giesing und Dr.
Murawski für viele wertvolle Hinweise.

Herrn P. Zöfel vom Rechenzentrum der Universität Marburg bin ich für
die statistische Berechnung zu Dank verpflichtet.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel :
Zur akuten Wirkung von Äthanol und Fructose bei gesunden Versuchspersonen. Untersuchung mit einer neuen Mikromethode in der medizinischen Poliklinik der Universität Marburg und im physiologisch-chemischen Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. H. Kaffarnik, mit Unterstützung durch Herrn Professor H. Egge (Physiologisch-Chemisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn), ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.
Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

A handwritten signature in dark ink, reading 'Fredy Bertram' with a checkmark at the end.

Marburg, den 15. April 1977

Fredy Bertram

